

# Posouzení linearity kalibrační závislosti

## Luděk Dohnal

Referenční laboratoř pro klinickou biochemii, ÚKBLD 1.LF UK a VFN, Karlovo nám. 32, 12111 Praha 2, [ludek.dohnal@lf1.cuni.cz](mailto:ludek.dohnal@lf1.cuni.cz)

## Paul Faigl

FCDD, University of Southern Queensland, Toowoomba, Australia, [faiglp@usq.edu.au](mailto:faiglp@usq.edu.au)

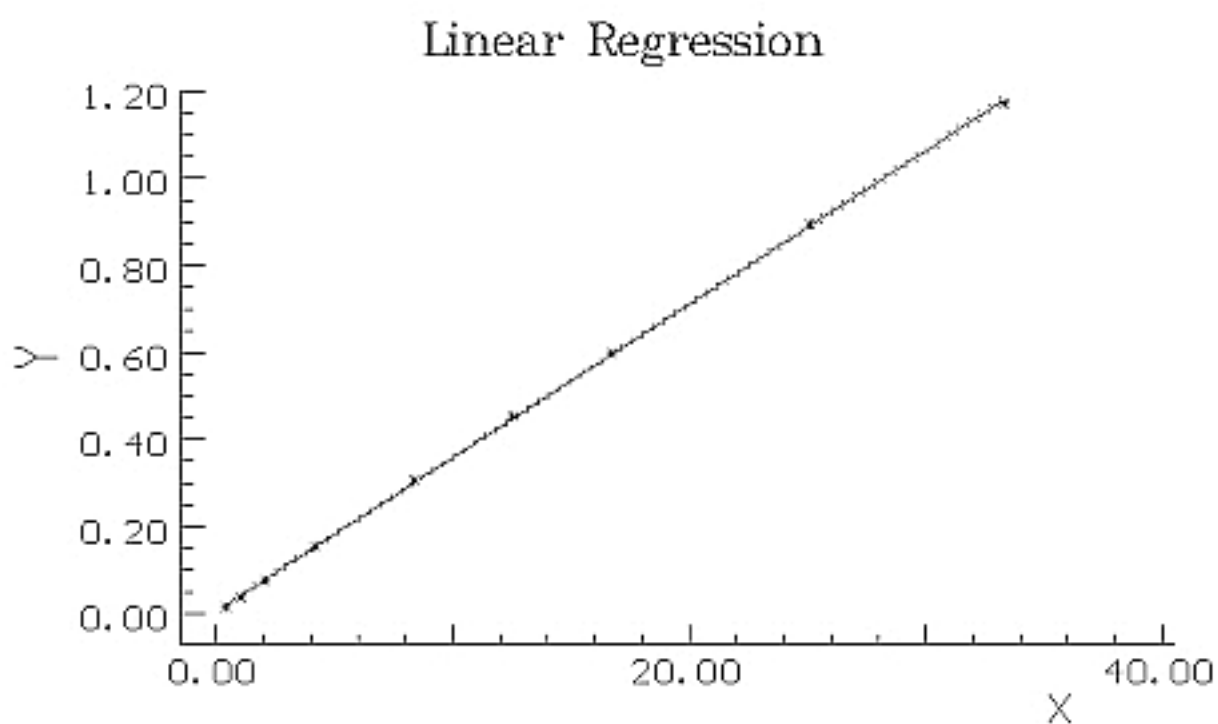
- kalibrace - závislost analytické odezvy (absorbance, plocha peaku, objem roztoku) na koncentraci analytu
- linearita - charakteristika či vlastnost analytické metody
- metoda zcela nelineární nebo lineární omezení
- v oblasti nelinearity vhodná kalibrační křivka
- lineární kalibrace je výhodná - jednoduchý výpočet a konstrukce, konstantní citlivost

dvě sady kalibračních dat - spektrofotometrické stanovení glukosy

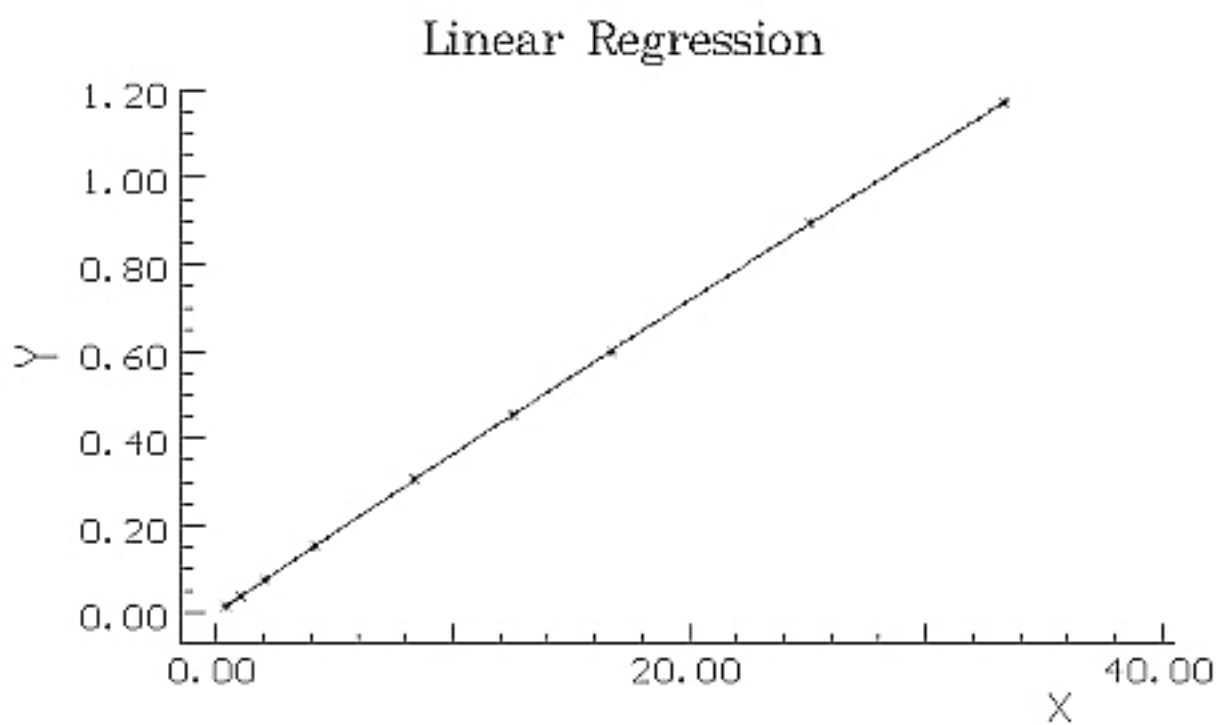
konc.	0,415	1,05	2,09	4,17	8,33	12,5	16,7	25,1	33,3
A 1	0,015	0,038	0,076	0,153	0,306	0,454	0,599	0,895	1,172
A 2	0,015	0,037	0,076	0,148	0,287	0,394	0,520	0,716	0,919

- obě sady zpracovány pomocí Adstat 2.0, modul Lineární regrese, hladina významnosti  $\alpha = 0,05$
- regresní rovnice  $A = B_0 + B_1 \cdot c + B_2 \cdot c^2 + B_3 \cdot c^3$
- spočteny statistiky, zkonstruovány regresní grafy a provedeny testy
  - MEP - střední kvadratická chyba predikce
  - RSC - residuální součet čtverců
  - Me - průměr absolutních hodnot residuí
  - Fischer-Snedocor - test významnosti regresního modelu
  - Cook-Weisberg - test skedasticity residuí
  - Jarque-Berae - test na normalitu distribuce residuí
  - Wald - test autokorelace residuí
  - znaménkový test - trend residuí

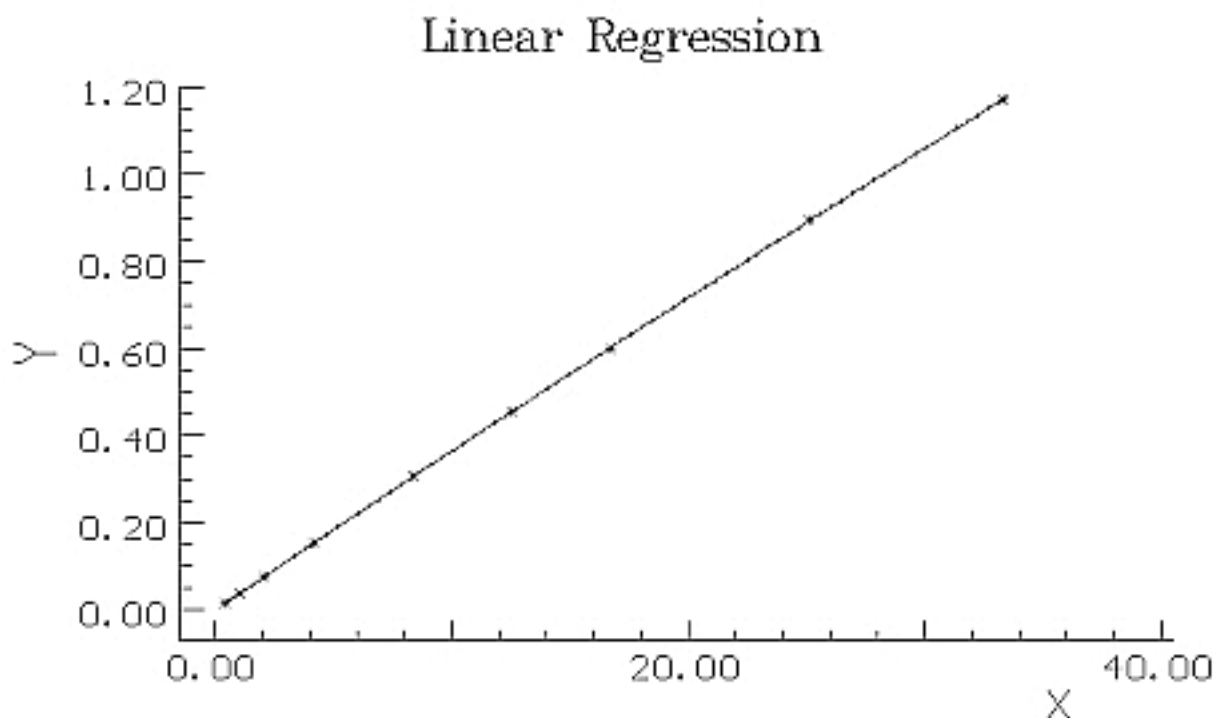
A1 - regresní graf - přímkový model



A1 - regresní graf - kvadratický model



A1 - regresní graf - kubický model



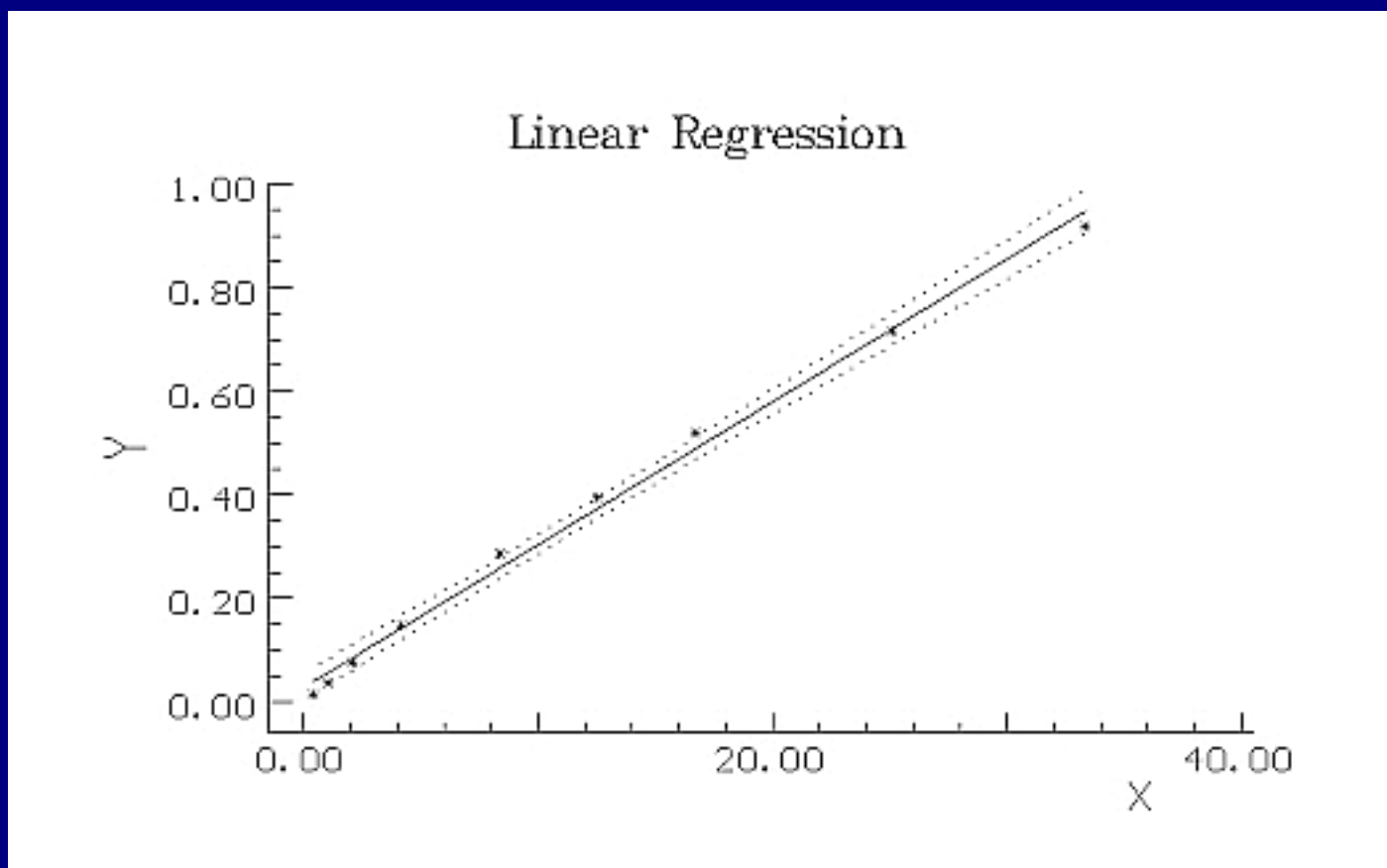
### A1 - statistiky, výsledky testů

model	lineární	kvadratický	kubický
B0	$5,526 \cdot 10^{-3}$ NS	$-2,870 \cdot 10^{-4}$ NS	$-7,168 \cdot 10^{-4}$ NS
B1	$3,529 \cdot 10^{-2}$	$3,693 \cdot 10^{-2}$	$3,718 \cdot 10^{-2}$
B2	-	$-5,179 \cdot 10^{-5}$	$-7,327 \cdot 10^{-5}$ NS
B3	-	-	$4,375 \cdot 10^{-7}$ NS
MEP	$7,240 \cdot 10^{-5}$	$3,661 \cdot 10^{-6}$	$5,553 \cdot 10^{-5}$
RSC	$2,611 \cdot 10^{-4}$	$1,627 \cdot 10^{-5}$	$1,519 \cdot 10^{-5}$
Me	$4,848 \cdot 10^{-3}$	$9,284 \cdot 10^{-4}$	$9,504 \cdot 10^{-4}$
Fischer-Snedocor	model významný	model významný	model významný
Cook-Weisberg	residua homoskedastická	residua homoskedastická	residua homoskedastická
Jarque-Berrae	residua normální	residua normální	residua normální
Wald	není autokorelace residuí	není autokorelace residuí	není autokorelace residuí
znaménkový test	není trend residuí	není trend residuí	není trend residuí

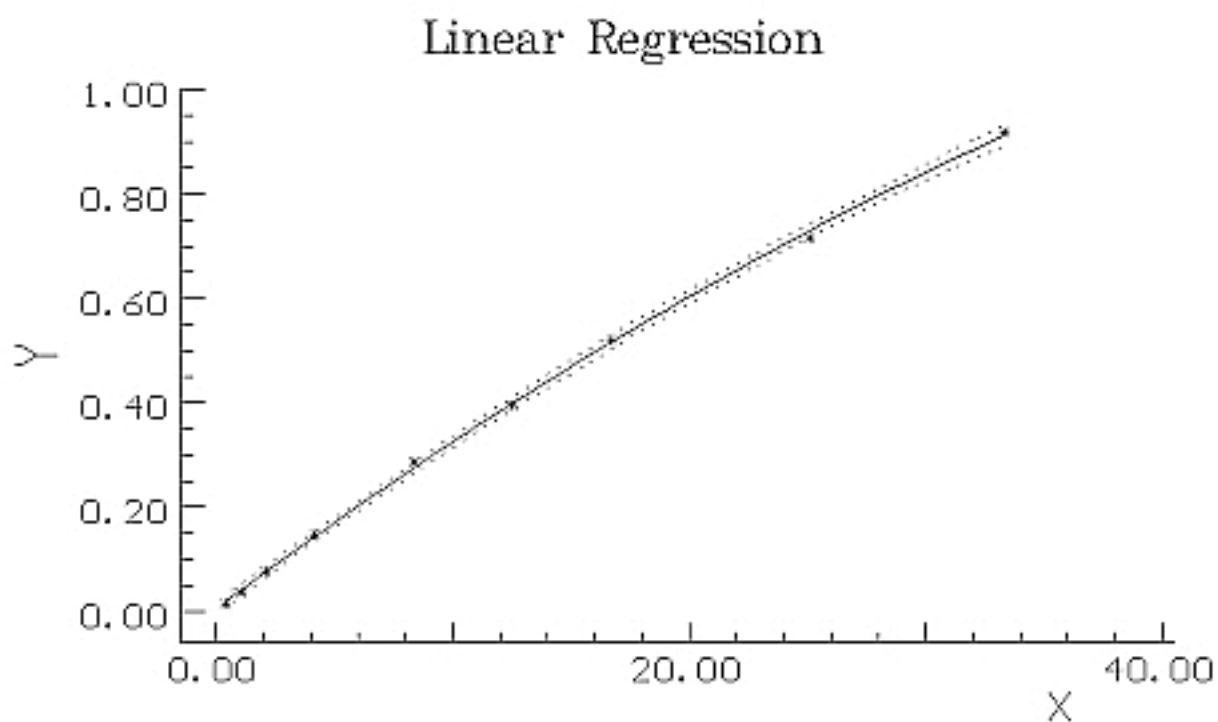
### A1 - srovnání měřených a predikovaných hodnot

koncentrace glukosy	měření	výpočet lineární	výpočet kvadraticky	rozdíl lin- kvadr %
0,415	0,015	0,0202	0,0150	+35
1,05	0,038	0,0426	0,0384	+11
2,09	0,076	0,0793	0,0767	+3
4,17	0,153	0,153	0,153	0
8,33	0,306	0,300	0,304	-1
12,5	0,454	0,447	0,453	-1
16,7	0,599	0,595	0,602	-1
25,1	0,895	0,891	0,894	0
33,3	1,172	1,181	1,172	+1

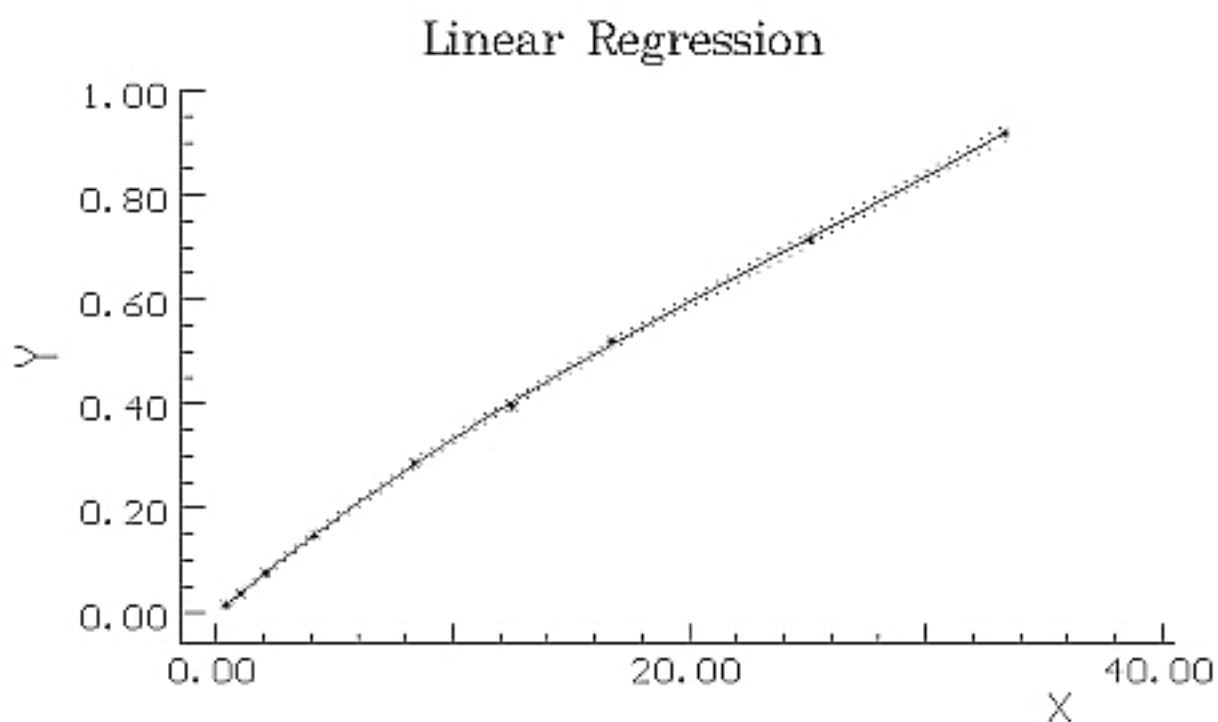
A2 - regresní graf - lineární model



A2 - regresní graf - kvadratický model



A2 - regresní graf - kubický model



A2 - statistiky, výsledky testů

model	lineární	kvadratický	kubický
B0	$2,846 \cdot 10^{-2}$	$5,945 \cdot 10^{-3}$ NS	$-1,885 \cdot 10^{-3}$ NS
B1	$2,75 \cdot 10^{-2}$	$3,389 \cdot 10^{-2}$	$3,851 \cdot 10^{-2}$
B2	-	$-2,006 \cdot 10^{-4}$	$-5,918 \cdot 10^{-4}$
B3	-	-	$7,969 \cdot 10^{-6}$
MEP	$9,492 \cdot 10^{-4}$	$3,803 \cdot 10^{-4}$	$8,762 \cdot 10^{-5}$
RSC	$4,177 \cdot 10^{-3}$	$5,061 \cdot 10^{-4}$	-4
Me	$1,917 \cdot 10^{-2}$	$6,181 \cdot 10^{-3}$	$2,796 \cdot 10^{-3}$
Fischer-Snedocor	model významný	model významný	model významný
Cook-Weisberg	residua homoskedastická	residua homoskedastická	residua homoskedastická
Jarque-Berrae	residua normální	residua normální	residua normální
Wald	autokorelace residuí	není autokorelace residuí	autokorelace residuí
znaménkový test	není trend residuí	není trend residuí	není trend residuí

## A2 - srovnání měřených a predikovaných hodnot

koncentrace glukosy	měření	výpočet lineární	výpočet kvadraticky	rozdíl lin-kvadr %
0,415	0,015	0,0399	0,0200	+100
1,05	0,037	0,0574	0,0413	+39
2,09	0,076	0,0860	0,0759	+13
4,17	0,148	0,143	0,144	-1
8,33	0,287	0,260	0,274	-5
12,5	0,394	0,373	0,398	-6
16,7	0,520	0,489	0,516	-5
25,1	0,716	0,720	0,730	-1
33,3	0,919	0,946	0,912	+4

## Závěr

Nejlepší regresí sady dat A1 je kvadratický model. V rozmezí koncentrací glukosy 4 až 33 mmol/l je přijatelný i lineární model, rozdíly predikce jsou zanedbatelné (do 1%).

Nejlepší regresí sady dat A2 je kvadratický model. Lineární a kubický model jsou nevhodné, mají autokorelovaná residua. Lineární model může posloužit jako hrubá aproximace a to pouze v rozmezí koncentrací glukosy 4 až 33 mmol/l.

Na případě sady dat A1 je vidět, že rozdíly mezi lineární a nelineární závislostí mohou být velmi subtilní. Proto je třeba porovnávat obezřetně.

## Literatura

- 1) Meloun,M.,Militký,J.: Statistické zpracování experimentálních dat, 839 stran, PLUS spol. s r.o., Praha (1994), ISBN 80-85297-56-6
- 2) Fischer,J.: soukromé sdílení
- 3) Passey,R.,B. (editor): Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods. Proposed guideline 1986, document EP6-P, NCCLS evaluation protocols, pp. 509-575, Villanova, Pennsylvania, USA (1994), ISBN 1-56238-217-9
- 4) Uživatelská příručka statistického systému Adstat 2.0, TriloByte s.r.o., Pardubice (1989, 1992)

Tento text byl kompletně publikován jako přednáška ve sborníku z 10. ročníku semináře "Zajištění kvality analytických výsledků", který se konal v Komorní Lhotce ve dnech 26.-28.3.2007 a jehož odbornými garanty byli M.Meloun (Univerzita Pardubice), J.Tichý (Český metrologický institut) a V.Jiřák (Státní zdravotní ústav).